Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチによる連続希釈の前処理自動化：水素炎イオン化検出器の性能評価に使用するサンプルセットの作成

アプリケーションノート

著者

W. Dale Snyder
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808
USA

はじめに

連続希釈によるサンプルセットの作成は、分析化学者が頻繁に直面する課題です。連続希釈は、既知濃度のサンプルから開始し、このサンプルを使用して一連の希釈を行います。通常は、直前に希釈されたサンプルと溶媒を一定の割合で混合し、異なる濃度のサンプルを順次作成します。この操作は、特定の対象化合物によって機器のキャリブレーションを行う必要がある場合、または直線性、感度、検出下限値 (MDL) などの検出器の性能を評価する必要がある場合に行います。経時的に安定性がないサンプルの場合は、週に一度、または毎日の前処理が必要です。多くの場合、手動による前処理のエラーを最小限に抑えるため、または手間のかかる希釈の頻度を削減するために、必要以上に多くのサンプルを前処理しています。そのため、不要な廃棄物やコストが発生しています。

Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチは、連続希釈を高い精度で自動化することができ、必要な濃度範囲で少量のサンプルを作成することが可能です。連続希釈の前処理メソッドでは、最初に一定量の溶媒を空バイアルに分注し、次に一定量のサンプルをここに添加します。これを混合後、この希釈溶液と新しい溶媒バイアルを使用して、この手順を繰り返します。例えば、水素炎イオン化検出器 (FID) の性能を測定するには、直前のサンプルを 10 倍に希釈したサンプルのセットが必要です。最初のサンプルは、n-トリデカン (C_{13}) などの炭化水素です。各希釈溶液は、90 % の溶媒と 10 % の直前の希釈サンプル (v/v) で構成されています。通常 7 桁を評価する FID の直線性に対しては、7 または 8 段階のサンプルセットを作成することが必要です。本アプリケーションでは 2 週間にわたり、8 セットのテストサンプルを作成する前処理を行いました。3 セットは手動で、5 セットは Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチを使用して行い、サンプルあたりの最終液量は 1 mL または 0.5 mL となるようにしました。全 8 セットの繰り返し再現性は、各セットのサンプル重量および FID 性能のいずれにおいても良好な結果を示しました。

Agilent Technologies

実験方法

Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチを使用し、C_{13} 10 % 溶液の 10 倍希釈を段階的に行い、8 つの濃度レベル のサンプルを作成する前処理プログラムを実行しました。シーケンスは溶媒分注後にバイアル重量を量れるように、2 つに分けて行いました。1 つ目のシーケンスでは、各バイアルに一定量の溶媒を分注する操作を行います。2 つ目のシーケンスは、分注した溶媒バイアルの 1 つに C_{13} 10 % 溶液を添加して 10 倍希釈をし、さらに、その希釈溶液を別の溶媒バイアルへ添加するというように、段階的に 10 倍希釈を行う操作です。これによって、8 つの濃度レベルのサンプルが完成します。空バイアル、および各シーケンス後のサンプルバイアル重量を計量し、添加される液量の繰り返し再現性を確認しました。比較のため、同じサンプル前処理を手動でも行いました。

ハードウェアの構成

Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチに 2 本の Agilent 7693A オートサンプラを取り付けました。バックインジェクタには、500 µL シリンジ (部品番号 G4513-60561) をセットした拡張サンプルハンドリングシリンジキャリッジを使用しました。フロントインジェクタには、100 µL シリンジ (部品番号 5183-2042) をセットした標準サンプルハンドリングシリンジキャリッジを使用しました。1 つ目のシーケンスではバックインジェクタを使用し、2 つ目のシーケンスではフロントインジェクタを使用しました。

サンプル前処理

このサンプル前処理は 2 通りの方法で行いました。1 つは最終液量が 1 mL (溶媒 900 µL + サンプル 100 µL) になるように希釈する方法で、もう 1 つは、最終液量が 0.5 mL (溶媒 450 µL + サンプル 50 µL) になる方法です。

Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチのリソースレイアウトは両方のシーケンスで同じものを使用しました。

リソースレイアウト :

バイアル範囲	名称	タイプ	使用方法
2-9	MT バイアル	空コンテナ	1 回使用/バイアル
12-19	溶媒	ケミカルリソース	1 回使用/バイアル

必要となる 10 % C_{13} 溶液は、100 µL の C_{13} 溶液をイソオクタンが適量入った 1 mL メスフラスコに添加後、印が付いた部分までイソオクタンでメスアップをして作成しました*。

1 つ目のシーケンスでは空バイアルに 900 µL の溶媒を分注します (シリンジのパラメータについては付録を参照)。このシーケンスでは、バイアル範囲は 2〜9 を指定しています。

* 2 種類の 100 % 化合物を混合した際、体積が小さくなる可能性があるため、C_{13} 溶液は 100 % ではなく、10 % から希釈を開始しました。

第 2 のシーケンスでは、以下のプログラムに従ってサンプル希釈を行いました (シリンジのパラメータについては付録を参照)。

手順	操作
1	100 µL のサンプル (フロント) をバイアル #2 に加える
2	バイアル #2 を 1500 RPM で 0 分 5 秒間混合する
3	バイアル #2 からバイアル #3 に 100 µL を加える
4	バイアル #3 を 1500 RPM で 0 分 5 秒間混合する
5	バイアル #3 からバイアル #4 に 100 µL を加える
6	バイアル #4 を 1500 RPM で 0 分 5 秒間混合する
7	バイアル #4 からバイアル #5 に 100 µL を加える
8	バイアル #5 を 1500 RPM で 0 分 5 秒間混合する
9	バイアル #5 からバイアル #6 に 100 µL を加える
10	バイアル #6 を 1500 RPM で 0 分 5 秒間混合する
11	バイアル #6 からバイアル #7 に 100 µL を加える
12	バイアル #7 を 1500 RPM で 0 分 5 秒間混合する
13	バイアル #7 からバイアル #8 に 100 µL を加える
14	バイアル #8 を 1500 RPM で 0 分 5 秒間混合する
15	バイアル #8 からバイアル #9 に 100 µL を加える
16	バイアル #9 を 1500 RPM で 0 分 5 秒間混合する

結果

2 週間にわたって、一連のサンプル前処理を 8 回行いました。その内の 3 回は手動で行い (最終液量が 1 mL は 2 回、0.5 mL は 1 回)、5 回は Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチを使用して行いました (最終液量が 1mL は 3 回、0.5 mL は 2 回)。

表 1. 2 つ目のシーケンスにおける添加量の再現性 (8 回 の平均)

タイプ	手動	手動	手動	7696A	7696A	7696A	7696A	7696A
体積 (mL)	0.5	1.0	1.0	0.5	1.0	1.0	1.0	0.5
平均重量 (g)	*	0.6165	0.6151	0.3089	0.6176	0.6195	0.6180	0.3088
%SD	*	0.17	0.26	0.11	0.16	0.09	0.06	0.17

* 測定しませんでした。

2 つ目のシーケンスの添加量の再現性 (n = 8) は、最終液量が 1 mL と 0.5 mL のどちらの場合も ± 1 µL でした。各サンプルに添加する液量と採取される液量は同じであるため、操作の前後で液量変化が小さければ精度が良いといえます。この液量変化の平均は ± 1 µL となりました。この値は最低濃度のサンプルの添加された量を基準としています (最終液量が 1 mL では添加量は 100 µL、0.5 mL では添加量が 50 µL です)。

Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチの稼働時間の合計は、最終液量が 1 mL の場合は 49 分、0.5 mL の場合は 41 分でした。手動による前処理に費やした時間は測定していません。

FID 性能の再現性

FID の直線性、感度および検出下限値 (MDL) は、ASTM の手順にほぼ従って算出しました [1]。ASTM との大きな違いは、気体サンプルではなく液体サンプルを使用した点です。すべての測定は同じ FID で行いました。直線性の結果 (図 1) は、サンプル前処理を Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチで行った場合と手動で行った場合で基本的に差は見られませんでした。感度の平均と % SD は、それぞれ 26.3 と 2.4 と算出されました。この結果は、FID の性能が非常に良好なものであることを示すものです。MDL の変動 (表 2) は、C_{13} の溶出領域におけるノイズ平均が日変動するために生じるものです。

表 2. FID の MDL

タイプ	手動	手動	手動	7696	7696	7696	7696	7696
体積 (mL)	0.5	1.0	1.0	0.5	1.0	1.0	1.0	0.5
感度 (ma-s/gC)	27.2	25.7	25.8	26.8	26.8	25.5	26.6	25.5
MDL (pgC/s)	0.96	1.14	1.66	0.92	0.68	1.31	1.23	1.15

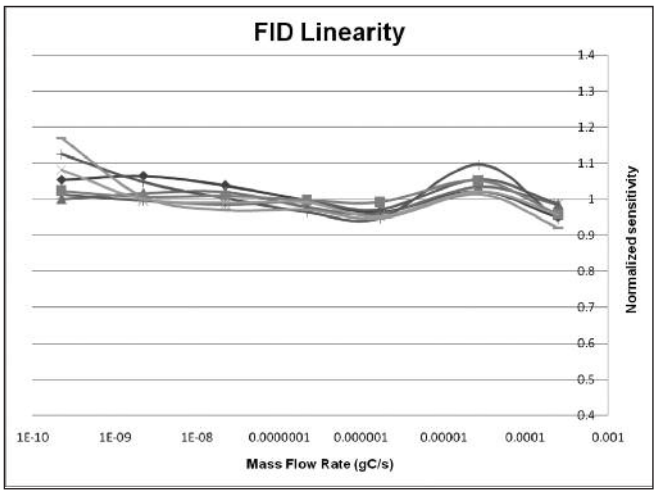

図 1. 直線性のプロット (全 8 回の分析を重ねて表示)

結論

Agilent 7696A サンプル前処理ワークベンチにより、連続希釈によるサンプルセットの作成が容易になります。分析要件を満たすために必要な量だけ、必要な時にのみ新しいサンプルの作成を実行できます。その結果、効率の向上、人為的なミスの軽減、試薬使用量の減少、廃棄コストの削減、繰り返し再現性の向上が達成されます。

付表

500 µL シリンジのパラメータ :

バック インジェクタ	溶媒 プレ洗浄 1	溶媒 プレ洗浄 2	排出 洗浄	排出 ポンプ	排出 設定	溶媒 ポスト洗浄 1	溶媒 ポスト洗浄 2
ポンプまたは洗浄回数				3			
洗浄ボリューム (µL)				50			
吸引速度 (µL/min)				1250	1250		
排出速度 (µL/min)				3000	3000		
ニードル深さオフセット (mm)				0	0		
粘性待ち時間				2	2		
タレット溶媒							
エアギャップ (% シリンジ体積)					0		

100 µL シリンジのパラメータ :

フロント インジェクタ	溶媒 プレ洗浄 1	溶媒 プレ洗浄 2	排出 洗浄	排出 ポンプ	排出 設定	溶媒 ポスト洗浄 1	溶媒 ポスト洗浄 2
ポンプまたは洗浄回数	1		1	2			
洗浄ボリューム (µL)	10		20	10			
吸引速度 (µL/min)	300		300	300	300		
排出速度 (µL/min)	6000		6000	6000	6000		
ニードル深さオフセット (mm)	0		0	0	0		
粘性待ち時間	2		2	2	2		
タレット溶媒	A						
エアギャップ (% シリンジ体積)					0		

参考資料

1. ASTM E594-96 (2006) Standard Practice for Testing Flame Ionization Detectors used in Gas or supercritical Fluid Chromatography

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc., 2010

Printed in Japan
November 10, 2010
5990-6850JAJP

Agilent Technologies